

• 论 著 •

慢性自发性荨麻疹患者血清维生素 D、脱氢表雄酮硫酸酯水平与 Th1/Th2 细胞因子及免疫球蛋白的关系分析

宿 斌¹,熊志飞²,赵 炳¹,信雅楠²,殷致宇³

(北京京城皮肤医院;1. 皮肤科;2. 检验科,北京 100101;3. 首都医科大学
附属北京安贞医院皮肤科,北京 100029)

摘 要:**目的** 探讨不同程度慢性自发性荨麻疹(CSU)患者血清维生素 D、脱氢表雄酮硫酸酯(DHEA-S)水平与辅助性 T(Th)1/Th2 细胞因子、免疫球蛋白的关系及临床意义。**方法** 选取北京京城皮肤医院 2016 年 1 月至 2017 年 12 月收治的 137 例 CSU 患者作为观察组,依据 CSU 病情分级将观察组分为轻度组(59 例)、中度组(41 例)、重度组(37 例),选取同期该院体检健康者 70 例作为对照组。比较观察组与对照组、不同 CSU 病情分级患者血清 25-羟基维生素 D[25(OH)D]、DHEA-S、Th1/Th2 细胞因子、免疫球蛋白水平。**结果** 与对照组比较,观察组血清 25(OH)D、DHEA-S、白细胞介素(IL)-2、干扰素(IFN)- γ 水平较低,血清 IL-4、免疫球蛋白(Ig)E、IgG 水平较高($P<0.05$)。轻、中、重度组血清 25(OH)D、IL-2、IL-4、IFN- γ 水平整体比较,差异无统计学意义($P>0.05$);病情越重,血清 DHEA-S 水平越低,IgE、IgG 水平越高($P<0.05$)。CSU 患者血清 25(OH)D 与 IL-2 水平呈正相关,与 IL-4、IFN- γ 水平呈负相关($P<0.05$);CSU 患者血清 DHEA-S 与 IL-2、IFN- γ 水平呈正相关,与 IL-4、IgE 水平呈负相关($P<0.05$)。**结论** CSU 患者血清维生素 D 水平的降低可能与 Th1/Th2 细胞失衡相关,血清 DHEA-S 水平的降低则可能与 Th1/Th2 细胞失衡及病情的进展相关,也可能与 IgE 介导的 I 型变态反应相关。

关键词:慢性自发性荨麻疹; 维生素 D; 脱氢表雄酮硫酸酯; 细胞因子; 免疫球蛋白

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2020.04.013

中图法分类号:R758.24

文章编号:1673-4130(2020)04-0435-04

文献标识码:A

Analysis of the relationship between serum vitamin D and dehydroepiandrosterone sulfate levels with Th1/Th2 cytokines and immunoglobulins in patients with chronic spontaneous urticaria

SU Bin¹, XIONG Zhifei², ZHAO Bing¹, XIN Yanan², YIN Zhiyu³

(1. Department of Dermatology; 2. Department of Clinical Laboratory, Beijing Jingcheng Skin Hospital, Beijing 100101, China; 3. Department of Dermatology, Beijing Anzhen Hospital Affiliated to Capital Medical University, Beijing 100029, China)

Abstract: Objective To investigate the relationship between serum vitamin D and dehydroepiandrosterone sulfate (DHEA-S) levels and Th1/Th2 cytokines and immunoglobulins in patients with chronic spontaneous urticaria (CSU) and their clinical significance. **Methods** A total of 137 CSU patients admitted from January 2016 to December 2017 in Beijing Jingcheng Skin Hospital were selected as the observation group. The observation group was divided into mild group (59 cases), moderate group (41 cases), and severe group (37 cases) according to the CSU disease classification, 70 cases of healthy people in the hospital during the same period were selected as the control group. Compare the levels of serum 25-hydroxyvitamin D [25(OH)D], DHEA-S, Th1/Th2 cytokines, and immunoglobulin in the observation group with the control group and patients with different CSU conditions. **Results** Compared with the control group, the serum 25(OH)D, DHEA-S, interleukin (IL)-2, and interferon (IFN)- γ levels were lower in the observation group, and serum IL-4, immunoglobulin (Ig)E, and IgG levels were higher ($P<0.05$). There was no significant difference in the overall levels of serum 25(OH)D, IL-2, IL-4, and IFN- γ in the mild, moderate, and severe groups ($P>0.05$); the more severe the disease, the lower the serum DHEA-S level, and the higher the IgE and IgG levels ($P<0.05$). Serum 25(OH)D was positively correlated with IL-2 level in CSU patients, and negatively correlated with IL-4 and IFN- γ levels ($P<0.05$). Serum DHEA-S was positively correlated with IL-2 and IFN- γ levels in CSU patients, and

作者简介:宿斌,男,主治医师,主要从事面部损美性皮肤病、过敏性和遗传性皮肤病方面的研究。

本文引用格式:宿斌,熊志飞,赵炳,等.慢性自发性荨麻疹患者血清维生素 D、脱氢表雄酮硫酸酯水平与 Th1/Th2 细胞因子及免疫球蛋白的关系分析[J].国际检验医学杂志,2020,41(4):435-438.

negatively correlated with IL-4 and IgE levels ($P < 0.05$). **Conclusion** The decrease in serum vitamin D level in CSU patients may be related to the imbalance of Th1/Th2 cells, and the decrease in serum DHEA-S level may be related to the imbalance of Th1/Th2 cells and the progression of the disease, and may be related to IgE-mediated type I allergies.

Key words: chronic spontaneous urticaria; vitamin D; dehydroepiandrosterone sulfate; cytokines; immunoglobulin

荨麻疹是临床上常见的皮肤疾病,在多种荨麻疹中,慢性自发性荨麻疹(CSU)约占 80%^[1],因 CSU 无法确定病因,常常得不到准确的治疗,导致病情迁延难愈,且复发率较高,给患者及家庭带来严重影响^[2]。最近研究显示,CSU 的诱因可能包括机体内维生素 D、脱氢表雄酮硫酸酯(DHEA-S)水平的异常变化及相关的炎性反应、免疫功能异常等^[3-4]。维生素 D 在机体内的主要存储形式为 25-羟基维生素 D[25(OH)D],辅助性 T(Th)细胞可分为 Th1、Th2 细胞,主要分泌白细胞介素(IL)-2、IL-4、干扰素(IFN)- γ 等细胞因子。有研究发现,CSU 患者体内 Th1/Th2 细胞的动态平衡遭到破坏^[5]。关于维生素 D、DHEA-S 参与机体免疫反应中的具体机制是当前研究的热点之一,可能为自身免疫性疾病的治疗提供新的方向,本研究主要探讨血清 25(OH)D、DHEA-S 与 Th1/Th2 细胞因子及免疫球蛋白的关系,维生素 D 与 DHEA-S 在 CSU 疾病中的作用。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取北京京城皮肤医院 2016 年 1 月至 2017 年 12 月收治的 137 例 CSU 患者作为观察组,其中男性 63 例,女性 74 例;年龄 16~67 岁,平均 (33.41 ± 6.92) 岁;除风团瘙痒外,并发呼吸困难 26 例(18.98%),腹痛 7 例(5.11%),关节痛 3 例(2.19%);有食物过敏史 93 例(67.88%),药物过敏史 8 例(5.84%),家族过敏史 31 例(22.63%);皮肤刺点试验阳性 89 例(64.96%),过敏原为尘螨 29 例(21.17%),花粉 28 例(20.44%),真菌 17 例(12.41%),其他 15 例(10.95%);再依据 CSU 病情分级^[6]将观察组分为轻度组(风团数目 < 20 个且轻度瘙痒)59 例、中度组(风团数目 20~50 个,有明显瘙痒但不影响正常生活)41 例、重度组(风团数目 > 50 个或重度瘙痒,不能忍受)37 例。

选取同期该院体检健康者 70 例作为对照组,排除过敏性疾病及其他可能影响检测结果的相关疾病。其中男性 34 例,女性 36 例,年龄 20~59 岁,平均 (34.22 ± 4.33) 岁。对照组与观察组性别及年龄组成比较,差异无统计学意义($P > 0.05$),具有可比性。纳入标准:(1)符合 2014 年中国荨麻疹诊疗指南中关于慢性自发性荨麻疹的诊断标准^[6];(2)病程在 6 周以上;(3)皮肤风团等症状明确且可见;(4)未接受过维生素 D 补剂、免疫抑制剂等治疗;(5)患者及家属签署知情同意书。排除标准:(1)患者的荨麻疹具有寒冷、

药物等明确诱因;(2)处于月经、妊娠等特殊生理时期;(3)检测前后 3 d 内接受过抗组胺药物的治疗;(4)伴有接触性皮炎等可与 CSU 症状混淆的其他过敏性疾病;(5)伴有可影响检验结果的其他疾病。

1.2 方法 于清晨采集观察组空腹静脉血 5 mL,对照组于体检当日采集空腹静脉血 5 mL,3 000 r/min 离心 10 min,吸取上层血清, -80°C 冷冻保存待检。应用全自动酶联免疫分析仪(购自美国 Molecular Devices 公司,型号 Spectre Max Plus384)检测血清 25(OH)D、IL-2、IL-4、IFN- γ 水平;应用全自动生化分析仪(购自美国 Nova Biomedical 公司,型号 Bioprofile Flex2)检测血清免疫球蛋白 IgE、IgG 水平,在中国医学科学院基础医学研究所免疫实验室进行操作;应用放射免疫分析法检测血清 DHEA-S 水平,试剂盒购自美国 DPC 公司,在中国医学科学院基础医学研究所实验室依据试剂盒说明书进行操作。

采用中国丁香园医学网站提供的“定量数据成组设计”的标本量估算方法设计参数,考虑到对照组是体检健康者,难以要求配合全程采集各类血液化验标本,故设计观察组和对照组为 0.67 : 0.33。经计算所得标本量分别为 129 例和 64 例,实际按增加 5%~10% 进行病例纳入(实为 137 例和 70 例)。

1.3 统计学处理 采用 SPSS22.0 软件进行统计学处理。检测数据主要为计量资料,均通过正态性检验,以 $\bar{x} \pm s$ 表示。2 组间比较采用 t 检验;3 组间比较采用单因素方差分析和多重比较 LSD- t 检验;相关性采用 Pearson 相关性分析。 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 2 组各检测指标比较 和对照组比较,观察组患者血清 25(OH)D、DHEA-S、IL-2、IFN- γ 水平较低,而血清 IL-4、IgE、IgG 水平较高($P < 0.05$)。见表 1。

2.2 不同 CSU 病情分级患者各检测指标比较 结果发现:仅少数指标的整体差异有统计学意义($P < 0.05$);中度组、重度组 DHEA-S 水平低于轻度组,且重度组 DHEA-S 水平低于中度组($P < 0.05$);中度组、重度组 IgE、IgG 水平高于轻度组,且重度组 IgE、IgG 水平高于中度组($P < 0.05$)。见表 2。

2.3 血清 25(OH)D、DHEA-S 水平与 Th1/Th2 细胞因子、免疫球蛋白的关系 Pearson 相关性分析表明,CSU 患者血清 25(OH)D 水平与 IL-2 水平呈正相关,与 IL-4、IFN- γ 水平呈负相关($P < 0.05$),与 IgE、

IgG 水平无明显相关性 ($P>0.05$); CSU 患者血清 IgE 呈负相关 ($P<0.05$), 与 IgG 水平无明显相关性 ($P>0.05$)。见表 3、图 1。

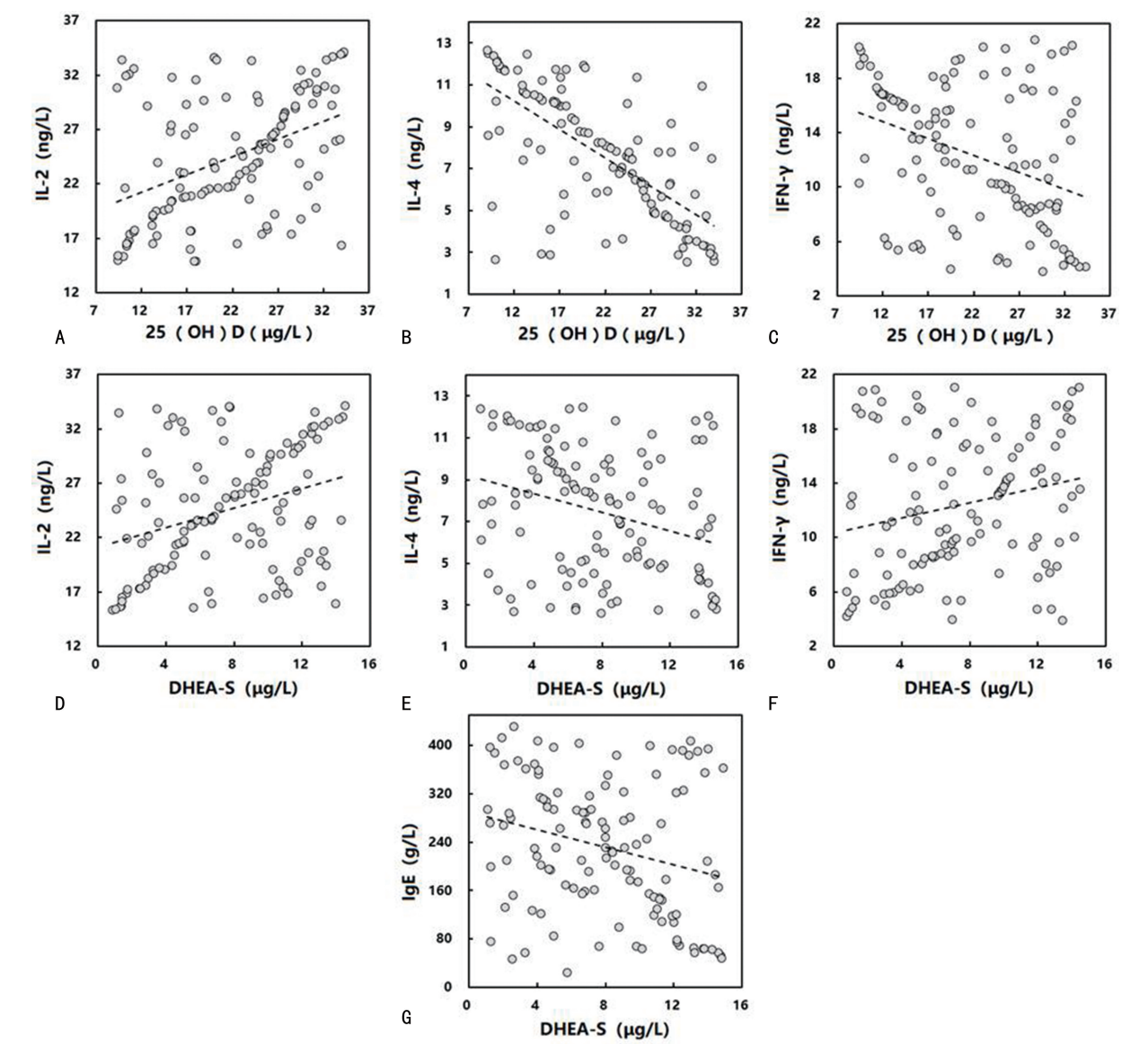
表 1 2 组各检测指标比较($\bar{x}\pm s$)

组别	<i>n</i>	25(OH)D($\mu\text{g/L}$)	DHEA-S($\mu\text{g/L}$)	IL-2(ng/L)	IL-4(ng/L)	IFN- γ (ng/L)	IgE(g/L)	IgG(g/L)
对照组	70	31.22 $\pm$ 2.96	13.11 $\pm$ 6.08	45.37 $\pm$ 15.71	3.68 $\pm$ 2.09	27.15 $\pm$ 8.92	22.03 $\pm$ 13.24	10.45 $\pm$ 3.54
观察组	30	21.65 $\pm$ 5.89	8.67 $\pm$ 3.20	24.63 $\pm$ 5.20	7.49 $\pm$ 2.43	12.32 $\pm$ 4.06	164.70 $\pm$ 58.71	16.56 $\pm$ 3.59
<i>t</i>		12.783	6.891	14.046	11.172	16.436	20.050	11.639
<i>P</i>		0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

表 2 不同 CSU 病情分级患者各检测指标比较($\bar{x}\pm s$)

组别	<i>n</i>	25(OH)D($\mu\text{g/L}$)	DHEA-S($\mu\text{g/L}$)	IL-2(ng/L)	IL-4(ng/L)	IFN- γ (ng/L)	IgE(g/L)	IgG(g/L)
轻度组	59	22.15 $\pm$ 7.34	10.50 $\pm$ 2.56	24.92 $\pm$ 5.27	7.70 $\pm$ 2.66	12.38 $\pm$ 4.19	115.52 $\pm$ 76.89	13.59 $\pm$ 2.46
中度组	41	21.57 $\pm$ 4.33	8.54 $\pm$ 2.50 [*]	24.32 $\pm$ 5.51	7.33 $\pm$ 2.34	12.15 $\pm$ 3.94	167.34 $\pm$ 86.98 [*]	17.43 $\pm$ 2.11 [*]
重度组	37	20.42 $\pm$ 4.45	4.62 $\pm$ 1.99 ^{*#}	24.59 $\pm$ 4.74	7.36 $\pm$ 2.15	12.58 $\pm$ 4.37	276.46 $\pm$ 98.03 ^{*#}	21.71 $\pm$ 1.84 ^{*#}
<i>F</i>		1.005	68.166	0.160	0.362	0.109	40.002	156.113
<i>P</i>		0.369	0.000	0.853	0.697	0.897	0.000	0.000

注:和轻度组比较,^{*} $P<0.05$;和重度组比较,[#] $P<0.05$ 。



注:A表示25(OH)D与IL-2的关系;B表示25(OH)D与IL-4的关系;C表示25(OH)D与IFN- γ 的关系;D表示DHEA-S与IL-2的关系;E表示DHEA-S与IL-4的关系;F表示DHEA-S与IFN- γ 的关系;G表示DHEA-S与IgE的关系。

图 1 血清 25(OH)D、DHEA-S 水平与 Th1/Th2 细胞因子、免疫球蛋白的相关性

表 3 血清 25(OH)D、DHEA-S 水平与 Th1/Th2 细胞因子、免疫球蛋白的关系

指标	IL-2		IL-4		IFN-γ		IgE		IgG	
	<i>r</i>	<i>P</i>	<i>r</i>	<i>P</i>	<i>r</i>	<i>P</i>	<i>r</i>	<i>P</i>	<i>r</i>	<i>P</i>
25(OH)D	0.592	0.000	−0.691	0.000	−0.432	0.000	−0.213	0.118	−0.195	0.124
DHEA-S	0.386	0.000	−0.352	0.000	0.284	0.001	−0.293	0.000	0.025	0.164

3 讨 论

欧洲荨麻疹指南报道,无法找到明确外源性诱因而被分类为 CSU 的患者约占总荨麻疹患者的 75%^[7]。CSU 以风团为主要临床表现,伴或不伴皮疹,风团及皮疹等症状可出现于患者四肢、躯体或面部,为患者带来很大的困扰,严重影响患者生活质量^[8-9]。许多学者将 CSU 归类于免疫性疾病,认为 CSU 的发病、病情进展与 Th1/Th2 细胞的失衡或变态反应有关^[10-12]。BOONPIYATHAD 等^[13]发现 CSU 患者血清维生素 D 水平较对照组显著下降,ER-TAS 等^[14]则发现可利用患者血清 IgE 水平预测奥马珠单抗对于 CSU 的治疗反应。为进一步探讨 CSU 的发病与发展机制,更好地辅助制订 CSU 临床治疗方案,本研究选择检测 CSU 患者血清 25(OH)D、DHEA-S 与 Th1/Th2 细胞因子及免疫球蛋白水平并分析可能的关系。

近年来,研究者逐步意识到维生素 D 在变态反应等免疫相关疾病中可能具有重要作用。王莹^[15]发现,维生素 D 能够通过增加 IL-2 的分泌,促进免疫缺陷小鼠免疫功能的恢复。李如霞等^[16]对尘螨抗原的研究提示,维生素 D 对免疫应答的干预作用可能与抑制 IL-4 的合成与分泌相关。KOKIC 等^[17]则发现在系统性红斑狼疮患者体内,维生素 D 与 IFN-γ 的水平呈负相关。25(OH)D 是维生素 D 在机体内的活性形式之一,也是维生素 D 的主要代谢物,半衰期可达 3 周,在体内水平较为稳定,因此,临床上常通过检测 25(OH)D 的水平来确定机体内维生素 D 的水平^[18]。本研究结果显示,CSU 患者血清 25(OH)D 的水平较体检健康者显著降低,且与 Th1/Th2 细胞因子的水平具有关联性,可以推断维生素 D 缺乏可能是 CSU 的诱因之一,这可能与维生素 D 能影响 Th1/Th2 细胞的动态平衡有关。本研究结果中,血清维生素 D 的水平与 IgE、IgG 水平无关,也与 CSU 患者的病情严重程度无关,因此维生素 D 对于 CSU 的作用应当与免疫球蛋白途径无关。

脱氢表雄酮是一种由肾上腺合成,来源于胆固醇的一种甾体性激素的前体激素,在人体内大部分以 DHEA-S 形式存在,作为甾体激素的重要前体,DHEA-S 通常被认为与人体的免疫系统相关。宁小丽等^[19]对 DHEA-S 与慢性荨麻疹关系的 meta 分析表明,较低的血清 DHEA-S 水平可能与慢性荨麻疹的发生有关。本研究结果显示,CSU 患者血清 DHEA-

S 水平显著低于体检健康者,且与病情严重程度密切相关,可以推断 DHEA-S 水平的变化不仅可能是 CSU 的内因之一,还有可能在 CSU 病情的进展过程中起重要作用。CSU 患者 DHEA-S 水平与 Th1/Th2 细胞因子均呈显著相关性,而 Th1/Th2 细胞因子与病情严重程度不存在关联,推断 DHEA-S 影响 Th1/Th2 细胞的动态平衡可能是其诱发 CSU 的途径,而 DHEA-S 参与 CSU 的病情进展则是通过影响 IgE 的合成与分泌,这可能与 IgE 介导的 I 型变态反应相关。相关研究提示,DHEA-S 在免疫相关疾病中的作用可能与其能够调控 Th1/Th2 细胞平衡有关^[20];胡月等^[21]关于 CSU 的研究结果显示,血清 DHEA-S 不仅影响 CSU 内 Th1/Th2 细胞因子,同时与机体内总 IgE 的水平呈负相关。机体的变态反应中,IgG 主要介导迟发性变态反应,因此,IgG 通常又被称为食物特异性免疫球蛋白^[22]。本研究结果中,CSU 患者血清 IgG 水平较对照组升高,推测 CSU 患者发病原因可能与食物过敏相关,但血清 IgG 的水平与血清 25(OH)D、DHEA-S 水平均不存在关联,由此可知维生素 D、DHEA-S 水平诱发 CSU 的机制与食物不耐受无关。

4 结 论

综上所述,CSU 患者血清维生素 D、DHEA-S 水平显著下降,均可能与 Th1/Th2 细胞失衡相关,但血清维生素 D 水平与病情严重程度、免疫球蛋白的异常无关;血清 DHEA-S 水平的降低则与 IgE 的异常、病情的进展相关,这可能是因为 IgE 介导 I 型变态反应,IgG 与维生素 D、DHEA-S 均不相关,因此,血清维生素 D、DHEA-S 参与 CSU 的机制与食物是否耐受无关。

参考文献

[1] SHARMA M,BENNETT C,CARTER B,et al. H1-anti-histamines for chronic spontaneous urticaria:an abridged cochrane systematic review[J]. J Am Acad Dermatol, 2015,73(4):710-716.

[2] 沈萃萃,吕萌. 慢性荨麻疹患者血清 25 羟基维生素 D 水平变化及其与 Th1/Th2 细胞失衡的关系[J]. 山东医药, 2018,58(4):77-79.

[3] 韩钰,王娟,张亚丽,等. 慢性自发性荨麻疹患者血清 25-(OH)-D 和 IL-25 水平检测[J]. 中国麻风皮肤病杂志, 2018,34(5):287-289.

[4] PRALL S P,LARSON E E,MUEHLENBEIN M P. The

- role of dehydroepiandrosterone on functional innate immune responses to acute stress[J]. *Stress Health*, 2017, 33(5):656-664.
- [5] MOVAHEDI M, TAVAKOL M, RAHMANI F, et al. Single nucleotide polymorphisms of IL-2, but not IL-12 and IFN- γ , are associated with increased susceptibility to chronic spontaneous urticaria[J]. *Allergol Immunopathol (Madr)*, 2017, 45(4):333-338.
- [6] 于波, 张杰. 慢性荨麻疹的诊断流程及鉴别诊断[J]. *皮肤病与性病*, 2015, 37(1):15-16.
- [7] ZUBERBIER T, ABERER W, ASERO R, et al. The EAACI/GA(2) LEN/EDF/WAO guideline for the definition, classification, diagnosis, and management of urticaria: the 2013 revision and update[J]. *Allergy*, 2014, 69(7):868-887.
- [8] 赵文玲, 刘艺迪, 王亚男, 等. 慢性自发性荨麻疹药物治疗进展[J]. *中华临床免疫和变态反应杂志*, 2016, 10(4):407-411.
- [9] 丁黎, 杨景煜, 郝雁杰, 等. 地氯雷他定片与匹多莫德片联合治疗慢性荨麻疹的临床疗效及对血清 IL-2 及 IL-4 水平的影响[J]. *现代生物医学进展*, 2016, 16(26):5169-5171.
- [10] 张倩雯, 梁碧华, 李润祥, 等. 慢性自发性荨麻疹发病机制及其治疗的研究进展[J]. *皮肤性病诊疗学杂志*, 2015, 22(4):332-335.
- [11] 刘丽明, 于波, 张杰. 慢性自发性荨麻疹自身免疫机制研究进展[J]. *中华实用诊断与治疗杂志*, 2015, 29(12):1154-1156.
- [12] 李润祥, 张倩雯, 黄振明, 等. 慢性自发性荨麻疹免疫相关指标与病情的相关性分析[J]. *皮肤性病诊疗学杂志*, 2015, 22(2):105-108.
- [13] BOONPIYATHAD T, PRADAPPONGSA P, SANGASAPA VIRIYA A. Decreased serum vitamin D level in patients with chronic spontaneous urticaria[J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2014, 133(2):120.
- [14] ERTAS R, OZYURT K, ATASOY M, et al. The clinical response to omalizumab in CSU patients is linked to and predicted by IgE levels and their change[J]. *Allergy*, 2018, 73(3):705-712.
- [15] 王莹. 维生素 D 对糖皮质激素免疫抑制模型小鼠的免疫调节作用[D]. 安徽: 安徽医科大学, 2016.
- [16] 李如霞, 侯进飞, 周瑾思, 等. 1,25-二羟基维生素 D₃ 对尘螨引起的 P815 肥大细胞 TLR4 表达和 IL-4 分泌影响的初步研究[J]. *中华微生物学和免疫学杂志*, 2015, 35(3):188-193.
- [17] KOKIC V, KALITERNA D M, RADIC M, et al. Relationship between vitamin D, IFN- γ , and E-2 levels in systemic lupus erythematosus[J]. *Lupus*, 2016, 25(3):282-288.
- [18] LIPS P. Relative value of 25(OH)D and 1,25(OH)₂D measurements[J]. *J Bone Miner Res*, 2007, 22(11):1668-1671.
- [19] 宁小丽, 臧运书, 潘敏. 血清硫酸去氢表雄酮水平与慢性荨麻疹关系的 Meta 分析[J]. *中国循证医学杂志*, 2016, 16(10):1131-1136.
- [20] 何泽生, 岳良, 安国芝, 等. 女性慢性特发性荨麻疹血清脱氢表雄酮硫酸酯水平检测及意义[J]. *安徽医科大学学报*, 2013, 48(5):567-570.
- [21] 胡月, 赵海春, 安国芝, 等. 慢性自发性荨麻疹血清脱氢表雄酮硫酸酯与总 IgE, IL-2, IL-4, IFN- γ 的相关性[J]. *中国皮肤性病学杂志*, 2016, 30(10):1007-1009.
- [22] 赖秀琴. 血清 IgE、IgG 在不同程度慢性荨麻疹中的表达[J]. *辽宁医学院学报*, 2015, 36(2):51-53.

(收稿日期:2019-05-18 修回日期:2019-09-05)

(上接第 434 页)

- activity in advanced nasopharyngeal carcinoma[J]. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 2006, 66(3):714-720.
- [13] KANAKRY J A. The clinical significance of EBV DNA in the plasma and peripheral blood mononuclear cells of patients with or without EBV diseases[J]. *Blood*, 2016, 127(16):2007-2017.
- [14] ZHAO F P, LIU X, CHEN X M, et al. Levels of plasma epstein-barr virus DNA prior and subsequent to treatment predicts the prognosis of nasopharyngeal carcinoma[J]. *Oncol Lett*, 2015, 10(5):2888-2894.
- [15] ZANG J, LI C, ZHAO L N, et al. Prognostic model of death and distant metastasis for nasopharyngeal carcinoma patients receiving 3DCRT/IMRT in nonendemic area of China[J]. *Medicine*, 2016, 95(21):e3794.
- [16] ANN-BRITT N, CLAUS B J, SUSANNAC, et al. Selection of reference genes for gene expression studies in pig tissues using SYBR green qPCR[J]. *BMC Mol Biol*, 2007, 8(5):67.
- [17] KOCH H, JESCHKE A, BECKS L. Use of ddPCR in experimental evolution studies[J]. *Met Ecol Evolu*, 2016, 7(3):340-351.
- [18] HERRING E, KANAOKA S, TREMBLAY É, et al. Droplet digital PCR for quantification of ITGA6 in a stool m RNA assay for the detection of colorectal cancers[J]. *World J Gastroenterol*, 2017, 23(16):2891-2898.
- [19] SCHWARTZ S L, LOWEN A C. Droplet digital PCR: a novel method for detection of influenza virus defective interfering particles[J]. *J Virol Met*, 2016, 237:159-165.
- [20] TANJA D. Optimising droplet digital PCR analysis approaches for detection and quantification of bacteria: a case study of fire blight and potato brown rot[J]. *Ana Bio Chem*, 2014, 406(26):6513-6528.
- [21] TAKUYA S. Establishment of a screening method for epstein-barr virus-associated gastric carcinoma by droplet digital PCR[J]. *Microorganisms*, 2019, 7(12):628.

(收稿日期:2019-05-23 修回日期:2019-09-20)